

# LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

---

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN LA CLÍNICA MÉDICA DE HOY

Bioq. María Eugenia Dacharry  
4 sep 2018

# DEFINICIÓN

- Enfermedad **inflamatoria crónica** de naturaleza **autoinmune** caracterizada por la afectación de múltiples órganos y sistemas y por la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA).
- Etiología multifactorial, existen factores genéticos, hormonales y ambientales.
- Afecta principalmente a mujeres jóvenes (proporción mujeres/hombres 9:1)

# CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DEL LES (American College of Rheumatology, revisados en 1982)

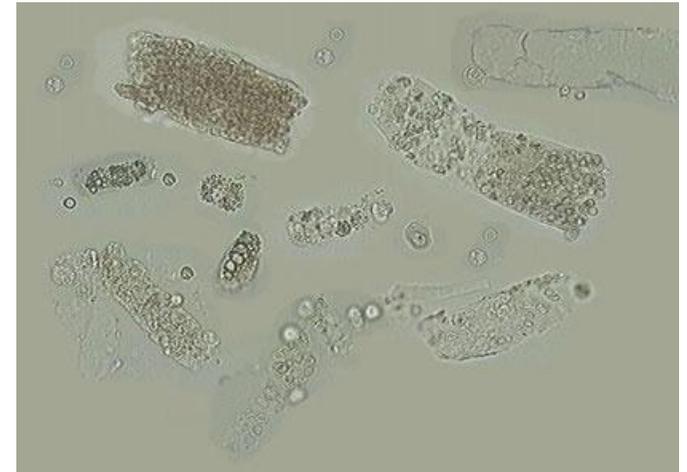
1. Eritema malar
2. Eritema discoide
3. Fotosensibilidad
4. Úlceras orales
5. Artritis
6. Serositis
- 7. Enfermedad renal**
8. Alteraciones neurológicas
- 9. Alteraciones hematológicas**
- 10. Alteraciones inmunológicas**
- 11. Anticuerpos antinucleares**

# ALTERACIÓN RENAL

- Proteinuria persistente mayor a 0,5 g/día.
- Cilindros celulares: pueden ser de eritrocitos, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos.

## Evaluación renal:

- ✓ Proteinuria de 24 hs
- ✓ Dosaje de urea y creatinina
- ✓ Sedimento urinario (hematuria y cilindruria)



# ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS

- Anemia hemolítica con reticulocitosis
- Leucopenia: menos de 4.000/mm<sup>3</sup> en dos o en más ocasiones
- Linfopenia: menos de 1.500/mm<sup>3</sup> en dos o más ocasiones
- Trombocitopenia: menos de 100.000/mm<sup>3</sup> en ausencia de fármacos que produzcan esta alteración

## Evaluación Hematológica:

- ✓ Hemograma y recuento de plaquetas
- ✓ Reticulocitos
- ✓ Valoración del Fe

# EVALUACIÓN DE REACTANTES DE FASE AGUDA

## ✓ Eritrosedimentación (VES) y PCR.

### **VES: Notablemente elevada.**

Inespecífica: aumenta en procesos inflamatorios, infecciosos y por causas fisiológicas.

Útil como prueba de orientación en el examen general del paciente.

### **PCR: Normal o levemente aumentada.**

Inespecífica.

Aumentos progresivos correlacionan con aumento de la inflamación, es más sensible y responde más rápidamente que la VES.

Es útil en la detección de infecciones ocultas.

# EVALUACIÓN DE REACTANTES DE FASE AGUDA

✓ Complemente sérico.

## Hipocomplementemia.

Se detectan **niveles bajos** de los factores **C3**, **C4** y actividad total **CH50**.

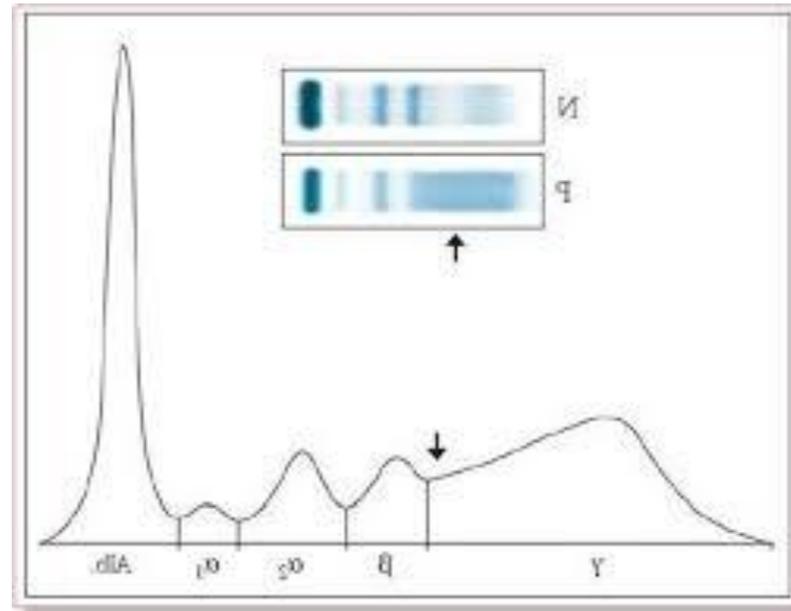
Mayor consumo debido a la activación episódica y descontrolada de las proteínas del complemento por producción de complejos inmunes circulantes (ICC).

Es un valor sensible para medir **actividad** clínica del LES.

# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

✓ Proteinograma por electroforesis.

**Hiperproteïnemia** acompañada de **hipoalbuminemia** e **hipergammaglobulinemia** de carácter policlonal.



# ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS

- Anti-DNA: título anormal de anticuerpos contra DNA nativo
- Anti-Sm: Presencia de anticuerpos contra antígeno nuclear Sm
- Hallazgo positivo de Anticuerpos antifosfolipídicos (AFL) basado en:
  - ✓ Anticuerpos anticardiolopina IgG o IgM,
  - ✓ Anticoagulante lúpico (método estándar), o
  - ✓ Falso positivo VDRL, que persiste 6 meses con resultado negativo en pruebas treponémicas.

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

- Un título anormal en cualquier momento de la enfermedad y en ausencia de fármacos conocidos como causantes de lupus inducido.

Son autoanticuerpos dirigidos contra diversos autoantígenos que incluyen componentes del núcleo, nucléolo, del citoplasma y de las membranas celulares.

La evaluación de los resultados debe desarrollarse en el contexto de la clínica pues algunos anticuerpos no son específicos de las colagenopatías.

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

✓ ANA positivos.

Pueden hallarse en:

- LES (95-99 % de los pacientes)
- Enfermedades sistémicas del tejido conectivo
- Enfermedades autoinmunes: Síndrome de Sjögren, espondilitis anquilosante, artritis reumatoidea, hepatitis autoinmune, esclerodermia, polimiositis y dermatomiositis.
- Infecciones crónicas
- Neoplasias
- Ancianos
- Embarazadas
- Drogas

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ ANA negativos.

Los ANA pueden ser negativos en pacientes con LES:

- ✓ 2-5% de los pacientes con actividad y sin tratamiento pueden ser ANA (-).
- ✓ 15% de los pacientes pueden volverse ANA (-) luego del tratamiento o cuando la enfermedad se vuelve inactiva.
- ✓ Un grupo de pacientes con compromiso renal terminal pueden volverse ANA (-) al perder sus proteínas por riñón

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Detección de ANA

Técnica: Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

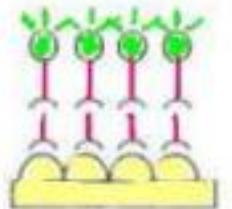
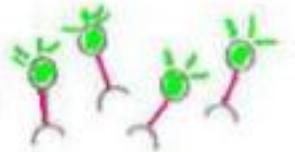
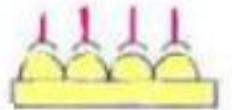
Muestra: suero

Fundamento:

El suero del paciente es puesto en contacto con el sustrato antigénico.

Si el anticuerpo está presente en el suero se unirá al antígeno formando un complejo antígeno-anticuerpo.

Se adiciona un anticuerpo anti humano conjugado con fluoresceína que se unirá al complejo.



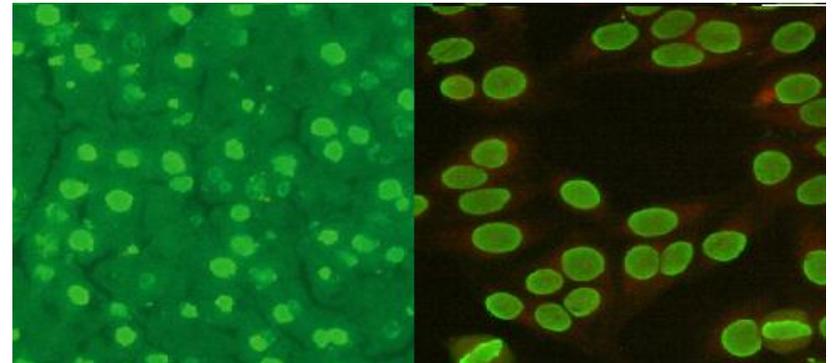
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Sustrato antigénico

Improntas de hígado de roedor o células de cultivo de carcinoma humano (Hep-2).

### Ventajas de utilizar Hep-2:

- ✓ Mayor sensibilidad (alta concentración de antígenos).
- ✓ Mayor especificidad que los tejidos animales (origen humano).
- ✓ Mayor tamaño nuclear y nucleolar.
- ✓ Presentan células en división
- ✓ Distribución antigénica uniforme.



# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Título de los Anticuerpos

Se define el título como la dilución mayor que da un resultado positivo.

Se consideran significativos títulos mayores a 1/160

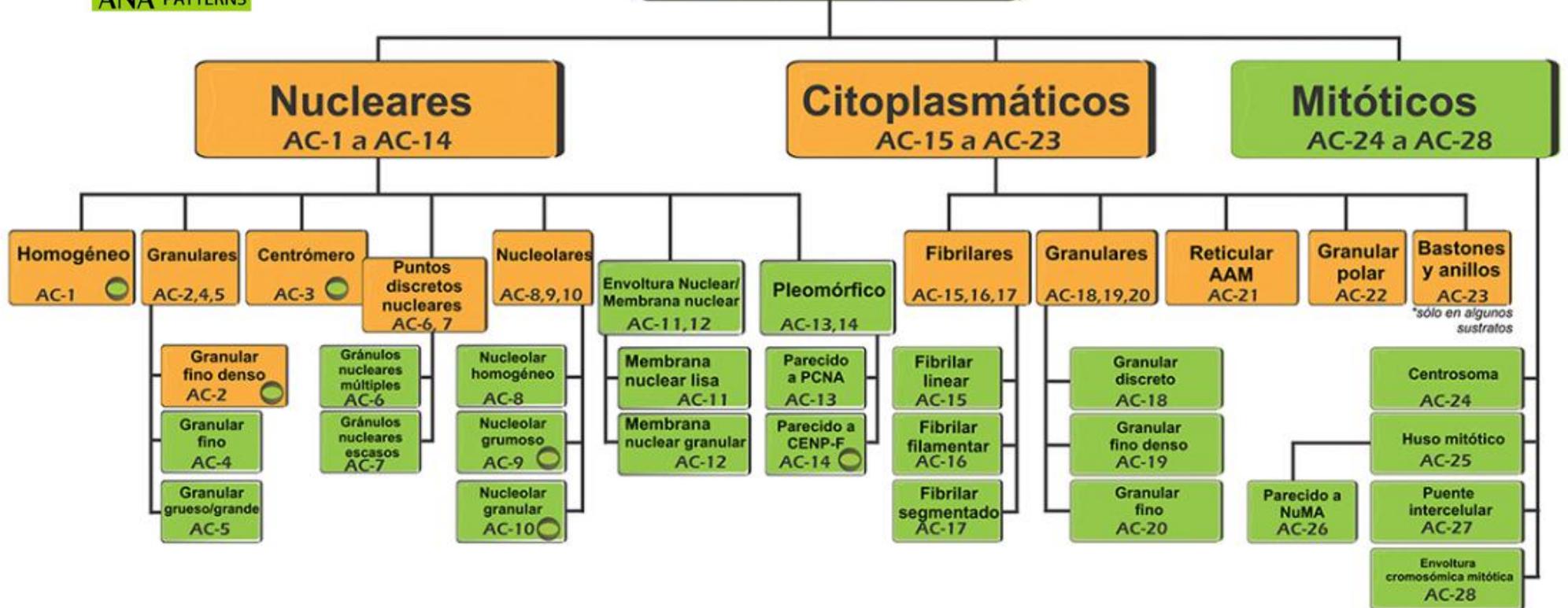
## ✓ Patrón de los Anticuerpos

Las líneas celulares permiten distinguir distintos patrones nucleares, citoplasmáticos y relacionados con el ciclo celular. Puede sugerir la patología causante del desequilibrio.

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES



## Patrones en HEp-2



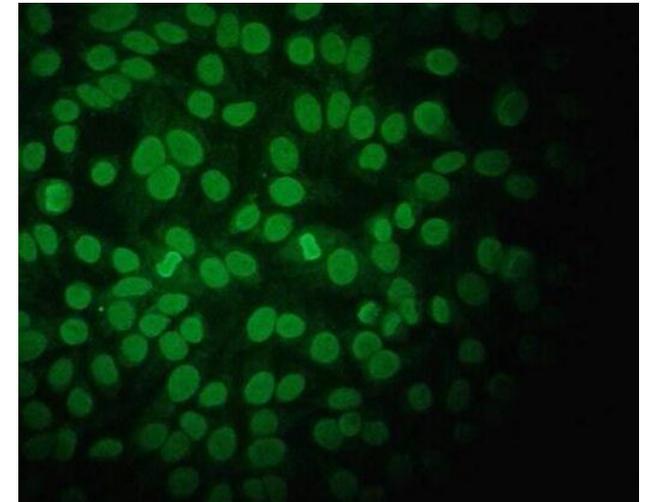
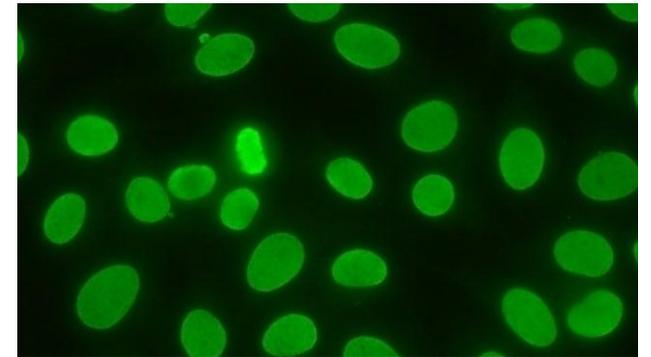
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón homogéneo

Fluorescencia homogénea y regular a través de todo el nucleoplasma, los nucléolos pueden o no fluorecer dependiendo del sustrato celular. Las células en mitosis tienen la cromatina intensamente fluorescente de manera homogénea.

Antígenos asociados: dsADN, nucleosomas, histonas

Enfermedades asociadas: **LES**, lupus inducido por medicamentos, artritis idiopática juvenil.



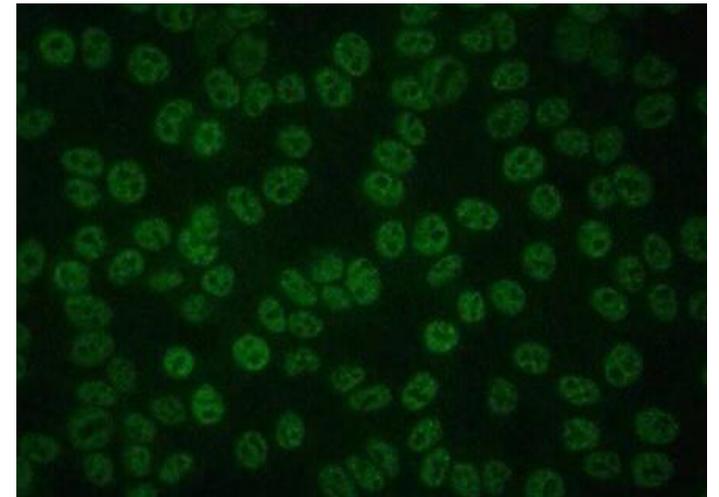
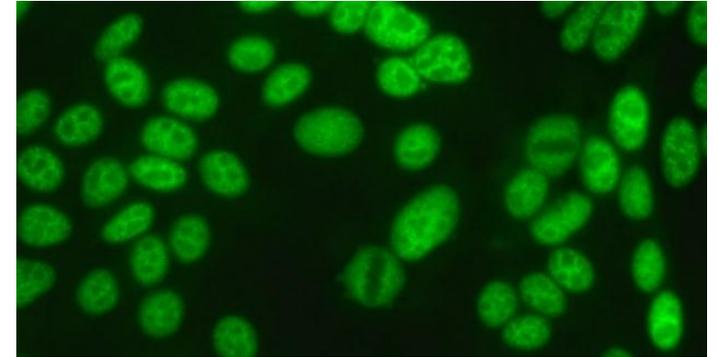
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón moteado fino

Gránulos diminutos finos a través de todo el nucleoplasma. El nucléolo puede teñirse o no. Las células mitóticas (metafase, anafase y telofase) tienen la masa de la cromatina no teñida.

Antígenos asociados: SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, TIF1

Enfermedades asociadas: SSj, **LES**, dermatomiositis



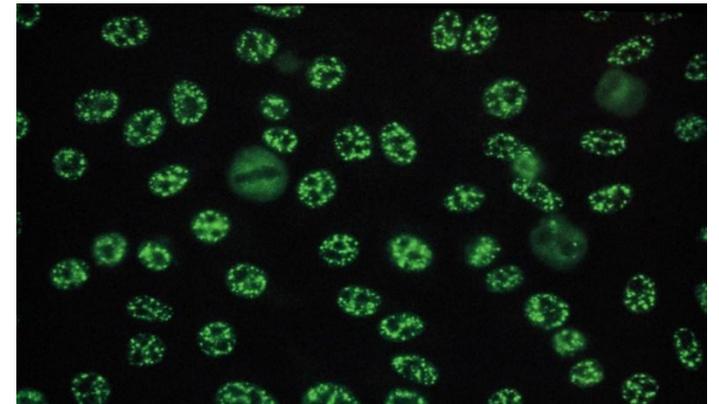
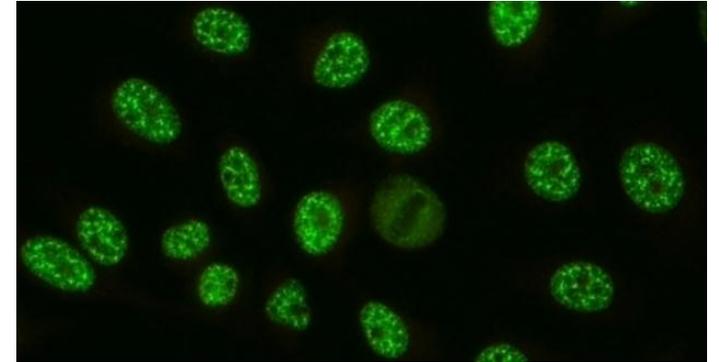
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón moteado grueso

Gránulos gruesos a través de todo el nucleoplasma. El nucléolo puede teñirse o no. Las células mitóticas (metafase, anafase y telofase) tienen la masa de la cromatina no teñida.

Antígenos asociados: hnRNP, U1RNP, Sm, ARN polimerasa III

Enfermedades asociadas: EMTC, **LES**, ES



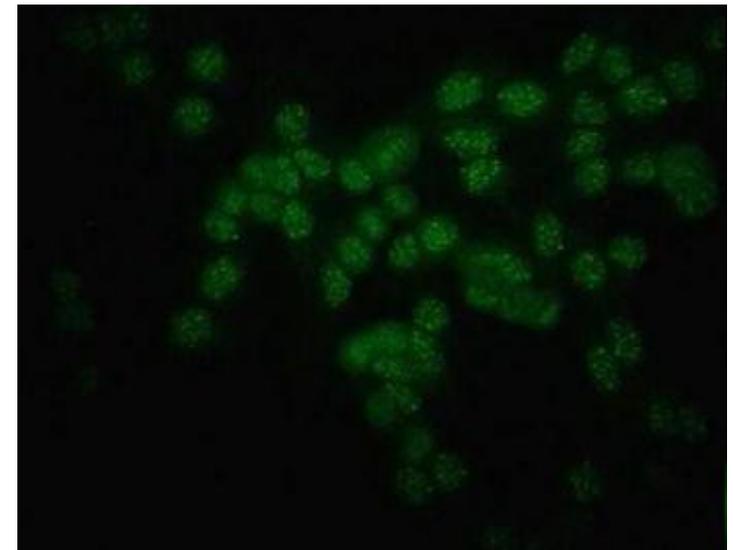
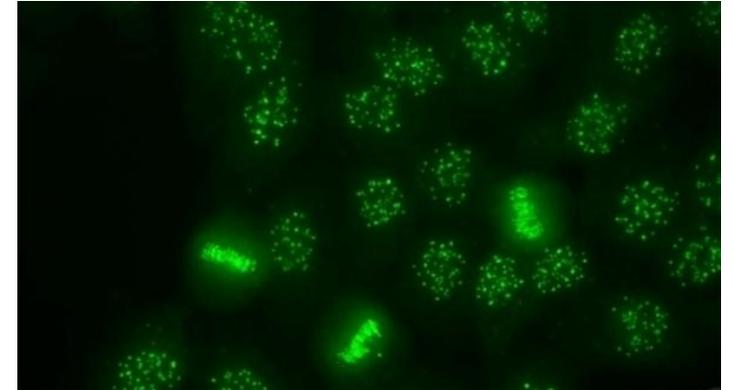
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón centromérico

Granular grueso discreto (40-80/célula) dispersos en los núcleos de las células en interfase y alineados en la masa de la cromatina en las células mitóticas.

Antígenos asociados: CENP-A/B

Enfermedades asociadas: ES cutánea limitada, CBP



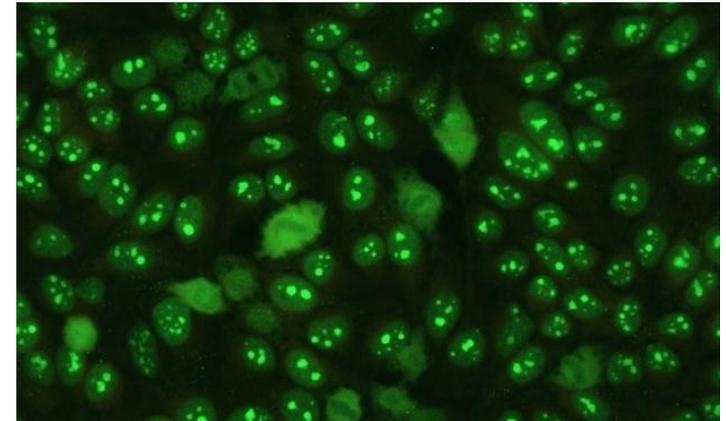
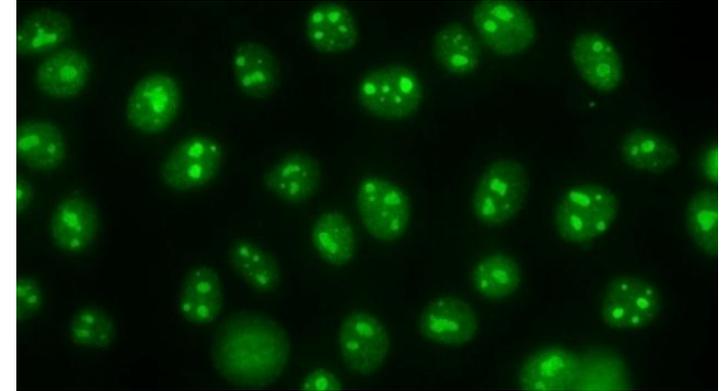
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón nucleolar

Fluorescencia difusa en todo el nucléolo, mientras que la placa metafásica no muestra tinción.

Antígenos asociados: PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th/To, B23/nucleofosmina, nucleolina, No55/SC65

Enfermedades asociadas: ES, ES/PM



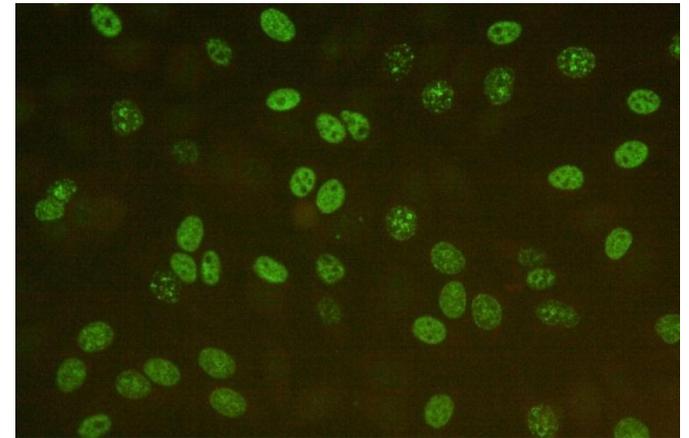
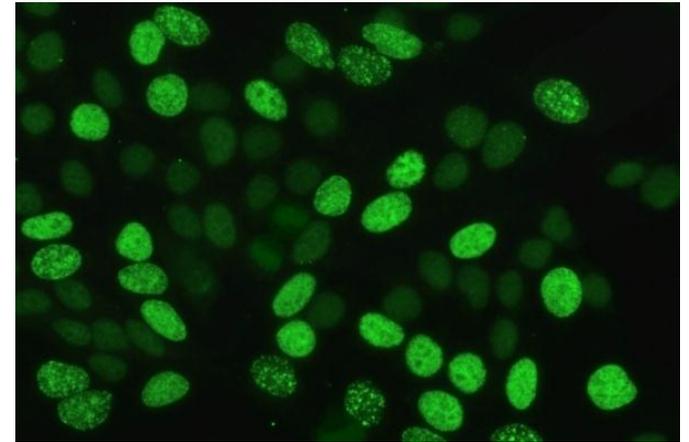
# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

## ✓ Patrón moteado pleomórfico PCNA

Tinción nucleoplasmática moteada pleomórfica, con variabilidad en tamaño y brillo de las motas. En la interfase, algunas células son negativas, algunas están intensamente teñidas y algunas presentan motas raras y dispersas con tinción nucleolar ocasional. Las células mitóticas no están teñidas.

Antígenos asociados: PCNA

Enfermedades asociadas: **LES** (3%)



# CONFIRMACIÓN

Para **confirmar la especificidad** del autoanticuerpo que dio un patrón de inmunofluorescencia por IFI, se deberá realizar otras pruebas inmunológicas de mayor especificidad utilizando antígenos específicos (ELISA, WB, Dot Blot, inmunoensayo lineal, etc).



# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

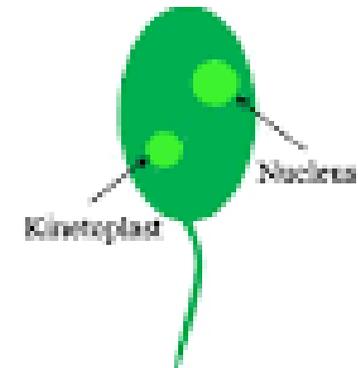
## ✓ Ac. Anti DNA

**Ac. anti-DNA<sub>ss</sub>:** tiene bajo valor diagnóstico. Su hallazgo es inespecífico y frecuente en la población que no presenta LES.

**Ac. anti-DNA<sub>ds</sub> o nativo:** su hallazgo es específico de LES, se detecta en un 60-80% de los pacientes. Su negatividad no descarta la enfermedad.

Métodos: **IFI, RIA o ELISA.**

La IFI utiliza como sustrato *Crithidia luciliae*, un protozoo hemoflagelado que presenta un cinetoplasto con alta concentración de ADN nativo.



# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

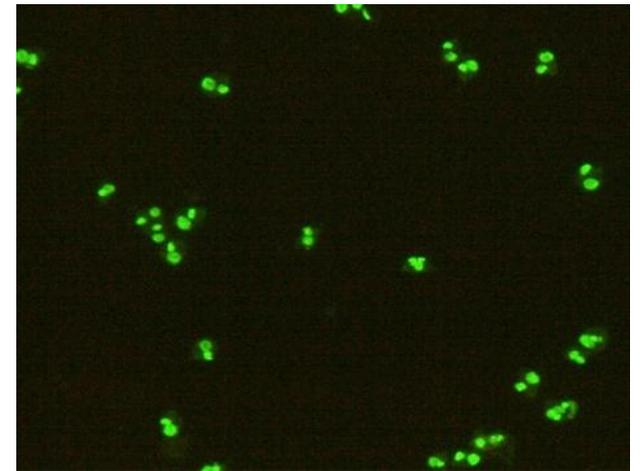
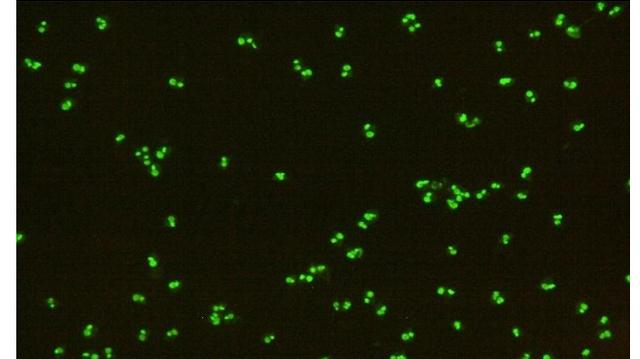
✓ Ac. Anti DNA de doble cadena o nativo

**Son específicos de LES** (criterio diagnóstico de LES)

Pueden desaparecer en la fase crónica, reapareciendo en los períodos de exacerbación.

La caída del título en respuesta al tratamiento y su aumento en la fase aguda hacen que se pueda utilizar para **vigilar el curso clínico**.

Una elevación de los títulos de anti-DNA junto a la caída del complemento, es un rasgo característico de implicación renal.



# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Ac. Anti Sm

Métodos: **IDR, ELISA, Inmunoblotting**

Su hallazgo es altamente específico de LES (E>90%)

Tiene baja sensibilidad (se lo detecta en el 30% de los casos)

Expresión persistente, permanece generalmente estático durante el curso de la enfermedad

## ✓ Ac. Anti-U1-nRNP

Métodos: **IDR, ELISA, Inmunoblotting**

Presente en 30% de los pacientes con LES y en todos los pacientes con EMTC

Generalmente se acompaña con FAN en títulos altos

# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Ac. Anti Ro/SSA

Métodos: **IDR, CIEF, Inmunoblotting y ELISA**

Se detecta con una frecuencia elevada (30 a 60%) en LES, 70% en LES subcutáneo agudo y 70-80% en lupus neonatal.

Aparece también en SS, superposición SS/LES y SS/esclerodermia.

## ✓ Ac. Anti La/SSB

Métodos: **IDR, CIEF, Inmunoblotting y ELISA**

Rara vez se observa en ausencia de anti-Ro

Se detecta en 10% de los pacientes con LES, es más frecuente en SS

# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Ac. Anti Histona

### Métodos: **ELISA** y **RIA**

Son pequeñas proteínas ricas en AA básicos que se unen al DNA

Se detecta en el 90% de los pacientes con LE inducido por drogas y en el 30-70% de pacientes con LES

La positividad para anti-histonas desnaturalizadas (libres de DNA) son inespecíficas, pueden aparecer en otros cuadros autoinmunes como AR, SS, ES, CBP, enfermedades neurológicas e infecciosas

## ✓ Ac. Anti C1q

### Métodos: **ELISA**

Se detecta en más del 40% de los pacientes con LES.

El 60% de los pacientes positivos para este marcador presentan nefropatía activa → **MARCADOR DE ENFERMEDAD RENAL**

# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Ac. Anti Ribosomal P

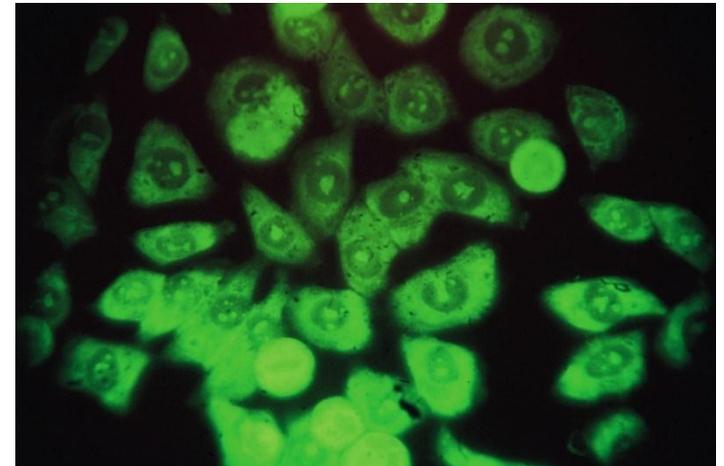
Métodos: **IFI**, **ELISA**, **inmunoblotting**, **CIEF**

Está dirigido contra las fosfoproteínas de la subunidad 60 del ribosoma.

Puede estar presente en el 10-20% de los pacientes con **LES**.

Se asocia, aunque es discutido, con compromiso neuronal (Psicosis lúpica).

En IFI se observa como un patrón mixto: Citoplasmático denso + nucleolar. **Se debe confirmar por otro método.**



# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Anticuerpos antifosfolipídicos

Grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, etc.)

En alrededor de 40% de los pacientes con LES se detecta positividad para uno o más de estos anticuerpos. Sólo 1/3 de estos pacientes tendrá manifestaciones clínicas.

Son capaces de producir trombosis arteriales y/o venosas, abortos a repetición y trombocitopenia.

Pueden estar presentes en forma primaria, o asociarse a innumerables condiciones patológicas, por lo que **no son específicos del lupus**.

La positividad de los anticuerpos no siempre se relaciona a eventos trombóticos. Si esto sucede hablamos de **SAF**

# EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA

## ✓ Anticuerpos antifosfolipídicos

**Anticuerpos anticardiolipinas y Anti-beta-2-Glicoproteínas IgG e IgM**

Método: ELISA

Altamente sensibles pero poco específicos para LES

**Anticoagulante (inhibidor) lúpico**

Método: Coagulométrico

La presencia de estos Acs puede conducir a **Falso positivo en pruebas serológicas de sífilis (VDRL)**. Confirmación con pruebas treponémicas.

GRACIAS POR SU ATENCIÓN

---